



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

TÍTULO

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE
Laurus nobilis “laurel” SOBRE *Escherichia coli* ATCC25922
COMPARADO CON CIPROFLOXACINO**

**TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE
MEDICO CIRUJANO**

AUTOR

TESSY NOHELY CAHUANA LLANOS

ASESORES

DRA. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

MG. BLGO. JAIME POLO GAMBOA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

Trujillo – Perú

2018

DEDICATORIA

A mis padres

A mi madre por su amor, comprensión y apoyo incondicional en todos los momentos, y por enseñarme siempre a perseverar en los momentos difíciles.

A mi padre, que a pesar de estar lejos, siempre apoyarme en mis decisiones y ayudarme a seguir adelante.

A mi hermana

Por su apoyo en todo momento.

Tessy Nohely Cahuana Llanos

AGRADECIMIENTO

A **Dios**, por derramar en mí sus bendiciones, dándome las fuerzas y la confianza respectiva para afrontar con actitud y responsabilidad toda esta maravillosa etapa que es la universidad.

A los **docentes**, por brindarme su conocimiento y experiencias durante el transcurso de toda mi formación académica.

A los **asesores**, por sus constantes correcciones y sugerencias que contribuyeron con el desarrollo de este proyecto.

A la **Universidad César Vallejo**, por contar con las herramientas y con un personal altamente competitivo, los cuales fueron claves para mi desarrollo profesional.

Así mismo, expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que directa o indirectamente contribuyeron en este proyecto.

Tessy Nohely Cahuana Llanos

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, TESSY NOHELY CAHUANA LLANOS con DNI 45828232, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Laurus nobilis* "laurel" SOBRE *Escherichia coli* ATCC25922 COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, son:

1. De mi autoría
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad Cesar Vallejo.

Trujillo, diciembre del 2018.

Tessy Nohely Cahuana Llanos

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Laurus nobilis* “laurel” SOBRE *Escherichia coli* ATCC25922 COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

La Autora.

ÍNDICE

PÁGINAS PRELIMINARES

PÁGINA DEL JURADO	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	iv
PRESENTACIÓN	v
ÍNDICE.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA	1
1.2. TRABAJOS PREVIOS.....	2
1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA.....	4
1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	10
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	10
1.6. HIPÓTESIS.....	11
1.7. OBJETIVOS	11
II. MÉTODO.....	12
2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	12
2.2. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN	13
2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	14
2.4. TÉCNICAS, PROCEDIMIENTOS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD.....	15
2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS	16
2.6. ASPECTOS ÉTICOS	16
III. RESULTADOS.....	17
IV. DISCUSIÓN.....	19
V. CONCLUSIÓN	21
VI. RECOMENDACIONES.....	22
VII. REFERENCIAS.....	23
VIII. ANEXOS	28

RESUMEN

Se evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino a 5 µg, en un estudio in vitro; se realizaron cuatro diluciones del aceite, al 100%, 75%, 50%, 25%. Las cepas fueron cultivadas en agar Mueller Hinton, la sensibilidad se realizó con Kirby-Bauer. Se obtuvo halo inhibitorio en todas las diluciones: al 25% con un halo de inhibición de 8.80 mm (DS 0.789 ± 0.249 IC95%: de 8.24 a 9.36, entre intervalos de 8 a 10 mm), al 50% 10.50 mm (DS 0.707 ± 0.224 IC95%: de 9.99 a 11.01, en intervalos de 10 a 12 mm), al 75% 14.60 mm (DS 1.075 ± 0.340 IC95%: de 13.83 a 15.37, en intervalos de 12 a 16 mm) y al 100% 16.80 mm (DS 0.789 ± 0.249 IC95%: de 16.24 a 17.36, en intervalos de 16 a 18 mm); sin embargo no superaron los valores de inhibición del CLSI (≥ 21 mm). El ciprofloxacino tuvo un halo de inhibición de 29.9 mm (DS 1.101 ± 0.348 IC95%: de 29.11 a 30.69, entre intervalos de 28 a 32 mm). Con el análisis estadístico ANOVA (0.000), con el test de Tukey, indican que el estudio fue altamente significativo y que a mayor concentración del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* mayor es el efecto antibacteriano pero no superó al del ciprofloxacino. Se concluye que el aceite esencial de la de la hoja de *Laurus nobilis* tiene efecto antibacteriano pero menor que el de ciprofloxacino.

Palabras claves: Aceite esencial, *Laurus nobilis*, antibacteriano, ciprofloxacino, bacterias Gram negativas, hojas, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

This *in vitro* study evaluated the antibacterial effect of the essential oil of *Laurus nobilis* "bay laurel" leaves on strains of *Escherichia coli* ATCC 25922 compared to ciprofloxacin at 5 µg. Four oil dilutions were used: 100%, 75%, 50%, 25%. Strains were cultivated in Mueller Hinton agar, susceptibility was evaluated using Kirby-Bauer. The zones of inhibition obtained in all dilutions were: at 25% a zone of inhibition of 8.80 mm (DS 0.789 ± 0.249 IC95%: from 8.24 to 9.36, between the intervals 8 and 10 mm), at 50% 10.50 mm (DS 0.707 ± 0.224 IC95%: from 9.99 to 11.01, between the intervals 10 and 12 mm), 75% 14.60 mm (DS 1.075 ± 0.340 IC95%: from 13.83 to 15.37, between the intervals 12 and 16 mm) and 100% 16.80 mm (DS 0.789 ± 0.249 IC95%: from 16.24 to 17.36, between the intervals 16 and 18 mm); however they did not exceed the CLSI (≥ 21 mm) inhibition values. Ciprofloxacin had a zone of inhibition of 29.9 mm (DS 1.101 ± 0.348 IC95%: from 29.11 to 30.69, between the intervals 28 and 32 mm). The ANOVA statistical analysis (0000), and the Tukey test show that the study was highly significant and that the higher the concentration of essential oil of leaves from *Laurus nobilis* the greater antibacterial effect, but it did not surpass ciprofloxacin. It is concluded that the essential oil of leaves from *Laurus nobilis* has an antibacterial effect but lower than the effect of ciprofloxacin.

Keywords: essential oil, *Laurus nobilis*, antibacterial, ciprofloxacin, Gram-negative bacteria, leaves, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades infecciosas al presente son la 3º causa de mortalidad mundial, dentro de estas localizamos a la patología diarreica la cual se encuentra como la segunda causa de fallecimientos en menores de 5 años, ocasionando 525 000 fallecimientos anuales así mismo la OMS nos indica que las primordiales etiologías de esta cifra son la patología septicémica atañida a la diarrea.¹

Escherichia coli tiene como habidad natural el intestino en un estado no patológico, y por lo general son patógenos inofensivos, sin embargo algunos tipos de *E. coli* generan en su metabolismo ciertas toxinas que producen un estado patológico grave, como lo es la toxina shiga. Esta toxina es producida por un 10% de todos los tipos de *E. coli*, la toxina shiga puede causar el síndrome hemolítico-urémico (SHU) con mayor prevalencia en la población pediátrica, con un tasa de letalidad global de 5%. El SHU ha sido reconocido en la población pediátrica como la principal causa de insuficiencia renal aguda. El 25% de los sujetos que desarrollan este síndrome llegan a tener secuelas convulsivas a repetición y el 50% tiene secuelas renales.²

La Organización Panamericana de Salud (OPS) indica que las patologías de origen diarreico por lo general son a causa de la transmisión a través de los víveres infestados con patógenos bacterianos así mismo se estima que en el mundo anualmente adolecen por este medio de contaminación 600 millones de sujetos. De forma global se estima que 1 de cada 10 pacientes pediátricos quedan enfermos por la contaminación alimentaria. Actualmente, las provisiones alimentarias cruzan por multitudinarias límites nacionales.³ El aceite esencial de *Laurus nobilis* “laurel” ha demostrado tener en su composición química múltiples agentes con actividad antibacteriana como son terpineol, cineol, sabineno, eugenol, metileugenol, pineno, reticulina, launobina, boldina, el cual le confiere a este vegetal uno de los agentes con mayor componentes bioactivos frente a los distintos patógenos bacterianos que general múltiples enfermedades infecciosas. ⁴

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Caputo L. et al (Suiza, 2017) evaluaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Laurus nobilis* en bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* (4313) y Gram negativas como *Escherichia coli*. Los resultados se obtuvieron a través del método de difusión de discos, donde mostró un diámetro de inhibición de $16 \text{ mm} \pm 2$ para *E. coli* a una concentración de $2 \text{ } \mu\text{L/mL}$. Se concluyó una actividad antimicrobiana significativa contra todos los microorganismos estudiados.⁵

Yerou O. et al (Algeria, 2015) determinaron el efecto antimicrobiano de *Laurus nobilis* contra bacterias por el método de difusión de disco, obteniendo como resultado un halo de inhibición de 19,3 mm para *Escherichia coli*, de 23 mm para *Salmonella* y 15 mm para *Lactobacillus*. Donde concluyeron que el aceite esencial de Laurel tiene moderada acción antibacteriana contra *E. coli*.⁶

Goudjil M. et al (Algeria, 2015) en el presente estudio se determinó la actividad antibacteriana de aceites esenciales de las hojas de *Laurus nobilis* que se cosechó en el Este de Argelia. La actividad antimicrobiana del aceite se probó usando el método de difusión en disco de agar, determinando la zona de inhibición y la concentración inhibidora mínima. Los resultados han demostrado un gran potencial de actividad antimicrobiana contra las cepas evaluadas como resultado un halo de inhibición para *Escherichia coli* de 13.73 mm, *Salmonella entérica* de 20.47 mm, *Klebsiella pneumoniae* 21.93 mm, entre otras bacterias.⁷

Nehir S. et al (Turquía, 2014) determinaron la actividad antibacteriana del aceite esencial del *Laurus nobilis* sobre bacterias patógenas mediante la técnica de difusión en agar con discos de base de 5 mm, obteniendo un halo de inhibición de 8.5 mm para *E. coli*. En este estudio se concluyó que el aceite esencial tiene buena actividad antibacteriana frente a patógenos Gram negativos como la *E. coli*.⁸

Ouibrahim A. et al (Algeria, 2013) evaluaron la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de diferentes plantas contra cepas bacterianas de las cuales la actividad fue más pronunciada con el aceite esencial de laurel, utilizaron diferentes concentraciones (100%, 50%, 25%, 12.5%) con el método de difusión en disco. Obteniendo como resultado para *Escherichia coli* un halo de inhibición de 11.5 mm a una concentración de 50%. Concluyeron que el laurel posee efecto antibacteriano contra *E. coli*.⁹

Bennadja S. et al (Algeria, 2013) analizaron el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de laurel a diferentes concentraciones (100%, 50%, 25%, 12,5%, 0,625%) en 8 cepas bacterianas, el diámetro de inhibición se determinó de acuerdo con el método de Vincent, donde se obtuvo un resultado de 11.5 mm para *E. coli*, 7.55 mm para *K. pneumoniae*, 23.35 mm para *S. aureus* en una concentración de 50%. Se estableció que el aceite esencial del laurel presenta actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas.¹⁰

Moghtader M. et al (Irán, 2013) evaluaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Laurus nobilis* L. sobre bacterias patógenas humanas mediante el método de difusión de disco a través de la zona de inhibición promedio, donde se identificaron halos de inhibición de 21 mm para *Klebsiella pneumoniae* (1053), 28 mm para *Escherichia coli* (1533), 29 mm para *Staphylococcus aureus* (1431). Concluyeron que el aceite esencial de *Laurus nobilis* L. posee una fuerte actividad antibacteriana sobre Gram positivos y Gram negativos.¹¹

Abu-Zaid A. et al (Egipto, 2013) evaluaron el efecto antimicrobiano del aceite esencial extraído de las hojas secas del *Laurus nobilis* “laurel” por destilación con vapor. El efecto antimicrobiano se evaluó mediante las medidas de zonas de inhibición por difusión en disco, donde se obtuvo un halo de inhibición de 8 mm para *E. coli* y 6 mm para *S. aureus*. En conclusión tuvieron un efecto inhibitorio sustancial en las bacterianas ensayadas, pero la actividad máxima se observó en cepas de *E. coli*.¹²

Ekren S. et al (Turquía, 2013) evaluaron la actividad antimicrobiana de diferentes aceites esenciales de plantas entre ellas la del *Laurel nobilis* L. donde se determinó por el método de difusión de disco, en el cual la mayor actividad antimicrobiana de *Laurus nobilis* L. con la aplicación de 20 µl de extracción del aceite donde mostró un efecto de inhibición contra *E. coli* O157:H7 ATCC 8739 con un halo de inhibición de 19 mm.¹³

Yilmaz E. et al (Turquía, 2012) evaluaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial extraído de las hojas de *Laurus nobilis*, por el método de difusión en disco donde se obtuvo los siguientes resultados *E. coli* O157:H7 con un halo de inhibición de 33 mm y para *C. jejuni* con 20 mm. Por lo que concluyeron que el presente estudio in vitro sugiere implicaciones muy importantes para el potencial antibacteriano.¹⁴

1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

Los aceites esenciales son compuestos aromáticos, naturales, volátiles y complejos, caracterizados por un fuerte olor, que son extraídos de las hojas, tallos, raíces, flores u otras partes de la planta. Las extracciones pueden ser obtenidas a través de la técnica por arrastre por vapor de agua, que es la técnica más usada, compresión de vegetales o uso de solventes. Evaporan rápidamente cuando expuestos al aire en temperatura ambiente, por lo que son llamados de aceites volátiles. Estos aceites poseen gran importancia industrial y son utilizados en las industrias de cosmética, perfumerías, alimenticia y farmacéutica. Las propiedades farmacológicas atribuidas a los aceites esenciales son diversas y algunas son recomendadas por presentaren ventajas importantes, cuando comparadas a otros medicamentos, como por ejemplo, su volatilidad y su bajo peso molecular de sus componentes, lo que posibilita que sean rápidamente eliminados del organismo a través de vías metabólicas.¹⁵

Químicamente, la gran mayoría de los aceites esenciales son constituidos por derivados fenilpropanoides o de terpenoides, siendo estos últimos los que predominan. Los aceites esenciales presentan diferentes propiedades biológicas, como acción antibacteriana, larvicida, actividad antioxidante, acción antiinflamatoria

y analgésica, fungicida y actividad antitumoral. La acción antibacteriana de los aceites esenciales ha sido demostrada a través de la susceptibilidad de las bacterias Gram positivas y negativas, según lo que se ha demostrado por los bajos valores de las concentraciones inhibitorias mínimas, propiedad que ha ganado gran importancia en la sustitución de conservantes artificiales.¹⁶

Laurus nobilis es el nombre científico del “laurel”, los nombres utilizados para referirse a esta planta son laurel, louro (portugués), que es un árbol perennifolia, pertenece al reino plantae, filo Magnoliophyta, clase de la Magnoliopsida, del orden de los Laurales, pertenece a la familia *Laurácea* comprende 32 géneros con aproximadamente 2000 a 2500 especies, dentro las cuales la especie *Laurus nobilis* L. es una de ellas, siendo considerada una especie nativa de la región del Mediterráneo, cultivada en mucho países de clima moderado, tropical y subtropical, no tolera a climas fríos, ni temperaturas muy bajas (-10° C), prefiere suelos ricos en materia orgánica, bien drenados, con buena luminosidad. Su forma de propagación son sus semillas o retoños basales, el cultivo debe ser realizado en suelos libres de contaminación, sin aplicación de agrotóxicos, la recolección se debe realizar cuando las hojas estén bien desarrolladas, en cualquier época del año, estas deben ser secas en sombra y en un lugar ventilado, para luego guardarlas en sacos de papel o tela, sus frutos deben ser recogidos cuando estén bien maduros.¹⁷

Sus características externas es un árbol de hojas perennes, con múltiples ramificaciones, que crece cerca de 10 metros de altura, su tallo es de cascara lisa y oscura; presenta hojas simples, coriáceas, verde-oscuras, onduladas en los bordes y aromáticas, estas son también un medios de diferenciación y reconocimiento de las plantas, sus flores son pequeñas contienen pocos lóbulos, masculinos y femeninos, separadas en la misma planta de coloración amarilla, el fruto presenta 10 a 15 mm, ovoide, succulento, de color morado con pequeña semilla, cuando maduro se vuelve de una coloración negra. La hoja es la parte de la planta más utilizada para fines medicinales, en la alimentación los aceites esenciales presentes en las hojas son ampliamente usados como realzadores del sabor.¹⁸

El laurel presenta actividades biológicas distintas tanto en los extractos, como en los aceites esenciales de las hojas de laurel y tiene, acción analgésica y

antiinflamatoria, adstringente, anticonvulsivante, actividad antiséptica en baños de asiento, diurético indicado para estimulación del flujo urinario, antirreumático, alivia dolores en general, antiparasitario, anticanceroso, está indicados en contusiones, regulación del flujo menstrual reduciendo las que son muy abundantes y favorece las que son escasas, posee acción antioxidante (especialmente el extracto de la corteza), con capacidad de impedir o reducir el proceso oxidativo de los sustrato oxidables, esta propiedad es muy importante para la conservación de la planta y son igualmente esenciales para la estabilidad de los alimentos, esta característica de la planta contribuye para la prevención de enfermedades crónicas, de enfermedades cardiovasculares y neurológicas y las disfunciones provocadas por el stress oxidativo, acción antibacteriana (aceite esencial de las hojas) por sus compuestos fenólicos y volátiles, acción antifúngica (aceite esencial de las hojas).¹⁹

Toda la planta es utilizada para la elaboración de productos usados en la medicina popular. Las hojas son las partes más utilizadas, si bien que las flores, los frutos, la cascara, el tallo, las raíces, las semillas sean también matrices vegetales con posible acción terapéutica. La razón por lo cual las hojas son partes más utilizadas está relacionada con su disponibilidad, abundancia y facilidad de adquisición. Debido al hecho de que se encuentran más expuestas a factores adversos, las hojas producen elevadas cantidades de metabolitos secundarios que, aunque no sean necesarios para el desarrollo y crecimiento de la planta son indispensables para su protección. Las hojas y los aceites son utilizados debido a las propiedades que le son atribuidas, como tratamiento de dolores musculares, en preparados dermatológicos para el tratamiento de micosis e de la psoriasis, y en las industria alimenticia como productos aromatizante de alimentos y en la preparación de salsas.²⁰

En los estudios fotoquímicos han revelado la presencia de compuestos terpenoides, fenólicos y del aceite esencial de sus hojas se evidencia sus principios activos que son terpineol, cineol, sabineno, eugenol, metileugenol, pineno, reticulina, launobina, boldina, entre otros. La composición química del aceite esencial del *Laurus nobilis* puede variar de acuerdo con factores ambientales y genéticos, diferentes quimiotipos y el estado nutricional de la planta, además pueden ser caracterizados por dos o tres componentes principales, conocidos como los compuestos

mayoritarios por presentaren concentraciones relativamente elevadas. El uso del laurel está contraindicado en gestación y lactancia y en caso de infusiones muy concentradas que pueden producir somnolencia, irritación gástrica, náuseas y vómitos, puede producir dermatitis de contacto, fotosensibilidad.²¹

El *Laurus nobilis* posee metabolitos secundarios, como los compuestos fenólicos e terpenos, presentan actividad antimicrobiana debido a la capacidad de poder actuar en diferentes blancos químicos de los microorganismos, suprimiendo una serie de factores. Los compuestos fenólicos pueden inhibir la síntesis de ácidos nucleicos tanto de bacterias Gram positivas como Gram negativas, la interrupción de producción de energía, inhibición de la formación de biofilms, disminución de las adherencias al huésped e la neutralización de toxinas bacterianas. los terpenos están involucrados en la interrupción de la membrana de las bacterias, resultando en la expansión de la membrana, aumento de fluidez y permeabilidad de la membrana, inhibición de la respiración y alteración de procesos de transporte de iones tanto en bacterias Gram positivas y Gram negativas.²²

Básicamente existen cuatro formas de *Escherichia coli* que causan enfermedades gastrointestinales: enteropatógena está asociada a diarrea en recién nacidos, esta bacteria produce lesiones en las microvellosidades intestinales, produciendo una diarrea acuosa con dificultad de absorción de los nutrientes, presenta fiebre, dolores abdominales, vómitos y náuseas.; enterotoxigénica se fija en la mucosa del intestino y produce toxinas generando una diarrea acuosa, cólicos abdominales, náuseas, y cansancio; enterohemorrágica la toxina producida por esta bacteria causa la muerte de las células del intestino grueso, produciendo diarrea sanguinolenta con vómitos y cólicos, un pequeño porcentaje de individuos afectados desarrollan Síndrome urémico-hemolítico y púrpura trombocitopenia trombótica y enteroinvasiva produce la enfermedad cuando son fagocitadas por un enterocito, donde se multiplican e invaden otros enterocitos, produciendo su destrucción, los síntomas presentes son fiebre, escalofríos, heces con sangre, cefalea y dolores abdominales.²³

Escherichia coli (*E. coli*) es un microorganismo que pertenece al reino Bacteria, filo Proteobacteria, clase Proteobacteria, subclase Gammaproteobacteria, de orden Enterobacteriales, de la familia Enterobacteriaceae, es un bacilo Gram-negativo,

anaerobio facultativo, fermenta glucosa y otros azúcares, produce gas, es catalasa positivo, oxidasa negativo y reduce el nitrato a nitrito, su temperatura ideal de multiplicación es de 37° C, sin embargo puede reproducirse en temperaturas de 18 a 44° C. Es parte de la microbiota del intestino, aunque una gran parte de las cepas de *E. coli* no sean patógenas, algunas adquieren características que las tornan capaces de producir una variedad de enfermedades en humanos y animales. Las cepas patógenas de *E. coli* pueden causar tres tipos principales de infecciones clínicas: enfermedades entéricas y diarreicas, infecciones del tracto urinario, sepsis y meningitis.²⁴

El cuerpo de la bacteria está compuesto por estructuras antigénicas que contribuyen para su clasificación en varios serotipos de *E. coli*, el antígeno somático “O” corresponde a una de las fracciones del principal componente de la pared celular de la bacteria Gram negativos, el lipopolisacárido (LPS), la segunda fracción es el lípido A, conocido como endotoxina, la tercera fracción es intermediaria y liga covalentemente el lípido A al antígeno somático. El antígeno “H” es de naturaleza proteica, conocida como flagelina. A los antígenos O y H se suman los antígenos “K” constituido de un ácido polimérico, y el antígeno fimbrial “F”, constituidos de moléculas de naturaleza proteica.²⁵

En la *E. coli* la virulencia es resultado del efecto acumulativo de una o diversas propiedades especiales o factores de virulencia, los cuales permiten distinguir patógenos potenciales de cepas intestinales inofensivas. Los factores de virulencia incluyen mecanismos que contribuyen para la instalación del patógeno en tejido del huésped, subvirtiendo las barreras de defensa del sistema inmune, los genes responsables por la codificación de estos factores pueden estar en los cromosomas, fagos o plásmidos, los factores de virulencia incluyen los sideróforos, adhesinas, antígenos polisacáridos y capsulares y toxinas como la hemolisina, el factor e necrotizante citotóxico del tipo 1 y la toxina de secreción autotransportadora, los cuales hacen con que la bacteria sea capaz de adherirse y lesionar las células y los tejidos del huésped fuera del tracto intestinal, evitando los mecanismos de defensa en estos sitios, estimulando una respuesta inflamatoria en el huésped y produciendo una enfermedad extra-intestinal.²⁶

La *E. coli* es una especie extremadamente diversa de bacterias que son capaces de colonizar y persistir en varios lugares, tanto en el ambiente como en huéspedes animales, en base a las diferentes propiedades de virulencia de la bacteria y síntomas clínicos del huésped, las cepas patógenas se clasifican en categorías. Existen dos grupos principales que contienen las *E. coli* diarreogénicas (DEC) y las *E. coli* patógenas extra-intestinales (ExPEC), siendo el primer grupo el causante de gastroenteritis y raramente causan alguna enfermedad fuera del tracto gastrointestinal, por otro lado las cepas de ExPEC mantienen la capacidad de colonizar el intestino sin producir enfermedad, sin embargo tienen la capacidad de diseminarse y colonizar otros nichos en el huésped, incluyendo el torrente sanguíneo, sistema nervioso central y tracto urinario, produciendo enfermedad.²⁷

Las cepas de *E. coli* diarreogénicas incluyen: *E. coli* enterogénica (ETEC) asociada a diarrea del viajero; *E. coli* (STEC) productora de toxina Shiga asociada con diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico; *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) asociada a infecciones intestinales que implica la invasión del enterocito, diarrea acuosa y disentérica; *E. coli* enteroagregativa (EAEC) asociada a diarrea persistente en humanos; *E. coli* de adherencia difusa (DAEC) y *E. coli* enteropatógena, que produce diarrea en niños. Las infecciones extraintestinales son causadas por tres tipos de *E. coli*: cepas uropatógenas causantes de infecciones del tracto urinario, cepas involucradas en meningitis neonatal y cepas que causan septicemia.²⁸

Ciproflaxacino (clorhidrato de ciprofloxacino) es un antibiótico bactericida hace parte de la familia de las quinolonas de 2ª generación, su mecanismo de acción se sustenta por interferir en la replicación del ADN bacteriano al bloquear la función de la ADN-girasa y de la topoisomerasa IV bacterianas. Es usado para el tratamiento de neumonías, infecciones urinarias, infecciones de la próstata, diarreas bacterianas, infecciones intraabdominales causadas por *E. coli* e infecciones de las vías respiratorias. Posee acciones contra diversas bacterias, incluyendo: *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, *Proteus mirabilis*, *Yersinia*; *Haemophilus influenzae*, *Campylobacter*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella catarrhalis* y *Staphylococcus aureus*.²⁹

1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Tuvo efecto antibacteriano in-vitro del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino a dosis de 5 µg, en un estudio in vitro?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Escherichia coli es un grupo grande y diverso de bacterias que se encuentran en el medio ambiente, alimentos e intestinos de personas y animales. Aunque la mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas, otras pueden producir enfermedades afectando a diversos sistemas y llegando a desarrollar enfermedades graves, por lo que se recurre a utilizar diversos antibióticos.

En varios antecedentes se presenta el uso de aceites esenciales y extractos de plantas con propiedad antibacterial, sin embargo este tipo de estudio no es muy explorado en nuestro país, siendo una región muy rica en una flora diversificada, por lo que se pretende realizar un estudio para evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Laurus nobilis* “laurel” sobre *Escherichia coli*, en que los resultados nos permitirán obtener información necesarias para poder plantear alternativas de nuevos agentes antibacterianos naturales sensibles a este germen. De evidenciarse la actividad antibacteriana del aceite esencial contra *E. coli*, se podrá utilizar para tratar diversas patologías infecciosas siendo de utilidad para la comunidad, por presentar pocos efectos adversos y ser de base para investigaciones posteriores con relación a este tema.

1.6. HIPÓTESIS

H₁: El aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” tuvo efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, comparado con ciprofloxacino a dosis de 5 µg en un estudio in vitro.

H₀: El aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” no tuvo efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino a dosis de 5 µg en un estudio in vitro.

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar si el aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, comparado con ciprofloxacino a dosis de 5 µg en un estudio in vitro.

1.7.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” a la concentración de 100%.
- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” a la concentración de 75%.
- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” a la concentración de 50%.
- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” a la concentración de 25%.
- Establecer el efecto antibacteriano del ciprofloxacino a dosis de 5 µg.

II. MÉTODO

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básico

DISEÑO DE INVESTIGACION: Experimento con repeticiones múltiples y post prueba.

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	X6	O6

Donde:

RG: Cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922

X1: Aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* al 100%

X2: Aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* al 75%

X3: Aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* al 50%

X4: Aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* al 25%

X5: Control positivo: Ciprofloxacino a dosis de 5 µg

X6: Control negativo: Dimetil Sulfóxido (DMSO)

O: Las observaciones del diámetro del halo de inhibición

2.2. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN

- **VARIABLE INDEPENDIENTE:** Agente antibacteriano.
 - **Agente antibacteriano no farmacológico:** Aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel”
 - **Agente antibacteriano farmacológico:** Ciprofloxacino a dosis de 5 µg
- **VARIABLE DEPENDIENTE:** Efecto antibacteriano
 - **Eficacia antibacteriana:** aumento del halo de inhibición ≥ 21 mm.
 - **No eficacia antibacteriana:** halo de inhibición ≤ 20 mm.

Operacionalización de variables:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V.I.: Agente antibacteriano	Sustancia producida por microorganismos o sintetizada químicamente, que en bajas concentraciones es capaz de inhibir e, incluso, destruir microorganismos sin producir efecto tóxicos en el huesped. ³⁰	Agente antibacteriano no farmacológico: <i>Laurus nobilis</i> “laurel” dividida en las siguientes diluciones: 100% 75% 50% 25% Ciprofloxacino a 5 µg DMSO	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
V.D.: Efecto antibacteriano	Inhibición del crecimiento y desarrollo de bacterias o su eliminación sin dañar el organismo infectado. ³¹	Se considera según CLSI: ³² Sensible: ≥ 21 mm Intermedio: 16-20 mm Resistente: ≤ 15 mm	Si efecto antibacteriano: ≥ 21 mm No efecto antibacteriano: ≤ 20 mm	Cualitativa nominal

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACION: Fue constituida por el conjunto de colonias de cepas de *Escherichia coli* cultivadas en la placa Petri en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo.

MUESTRA:

Tamaño muestra:

Por tratarse de un trabajo experimental se aplicó la formula estadística de diferencia de promedio sobre halos de inhibición, para definir el número de placas necesarias que validen la investigación. Se obtuvo 10 repeticiones por cada grupo experimental de estudio.³³ (Ver Anexo 01)

Unidad de análisis: Cada uno de los cultivos de cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922

Unidad de muestra: Cada placa Petri con cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922

Muestreo: No probabilístico

CRITERIOS DE SELECCIÓN: Se consideró los siguientes criterios.

Criterios de inclusión:

- Placas Petri con cultivos viables.
- Cepas cultivadas de 18 -24 horas.

Criterios de exclusión:

- Cepas que no crecieron en el medio de cultivo.(cepas inertes)
- Cepas o muestra contaminada.

2.4. TÉCNICAS, PROCEDIMIENTOS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: Fue la observación directa del crecimiento bacteriológico de los cultivos en las placas Petri.

PROCEDIMIENTO:

- a) Se procedió a realizar la Identificación de la planta mediante la Ficha Técnica proporcionada por la Empresa FRUTOS Y ESPECIAS S.A.C. (Ver Anexo 02)
- b) El aceite esencial de *Laurus nobilis* “laurel” se obtuvo mediante la técnica de arrastre a vapor de agua.³⁴ (Ver Anexo 03)
- c) Para realizar el cultivo de las bacterias en estudio, se consideró usar el medio de cultivo de Agar Mueller Hinton y la determinación de la sensibilidad (si era resistente, intermedio o sensible), se utilizó el procedimiento de difusión en agar, técnica de Kirby-Bauer.³⁵ (Ver Anexo 04)

INSTRUMENTO: El instrumento que se utilizó fue la ficha de recolección de datos que consiste en observar las placas, diluciones y halos de inhibición a las 24-48 horas. (Ver Anexo 05).

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

El instrumento fue validado por opinión de tres profesionales del área en quienes evaluaron las variables de estudio y los ítems considerados en la ficha de recolección de datos, y determinar si son relevantes al estudio y tienen claridad, objetividad, actualidad, organización, suficiencia, intencionalidad, consistencia, coherencia, metodología y oportunidad para su aplicación. (Ver Anexo 06).

2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

La información obtenida fue tabulada en una ficha Excel, y luego se analizó en el programa SPSS versión 25 para Windows.

Las pruebas estadísticas realizadas fueron análisis de varianza (ANOVA), para evaluar la diferencia significativa entre los diámetros y la técnica post ANOVA de Tukey para evaluar la homogeneidad de los grupos de estudio y evidenciar el grupo con mayor eficacia inhibitoria.

2.6. ASPECTOS ÉTICOS

En el estudio se tomó en cuenta las medidas de bioseguridad en el laboratorio dadas por el Ministerio de Salud.³⁶ (Ver Anexo 07) Así mismo se consideró la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad De Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

En el presente trabajo se respetó el principio de ética adoptado en el capítulo 6 de código de ética del Colegio Médico del Perú, especialmente art 48.³⁷ (Ver Anexo 08)

III. RESULTADOS

Tabla 01: Efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino 30 µg en un estudio in vitro.

DATOS DESCRIPTIVOS								
Tratamiento	N	Media	Desv.	Desv. Error	95% del IC para la media		Mín.	Máx.
					Límite inferior	Límite superior		
<i>Laurus nobilis</i> al 100%	10	16,80	0,789	0,249	16,24	17,36	16	18
<i>Laurus nobilis</i> al 75%	10	14,60	1,075	0,340	13,83	15,37	12	16
<i>Laurus nobilis</i> al 50%	10	10,50	0,707	0,224	9,99	11,01	10	12
<i>Laurus nobilis</i> al 25%	10	8,80	0,789	0,249	8,24	9,36	8	10
Ciprofloxacino	10	29,90	1,101	0,348	29,11	30,69	28	32

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

Tabla 02: Efecto antibacteriano del aceite esencial de la Hoja de *Laurus nobilis* “laurel” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino 30 µg en un estudio in vitro.

ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4943,733	5	988,747	1443,036	0,000
Dentro de grupos	37,000	54	0,685		
Total	4980,733	59			

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

Tabla 03: Efecto antibacteriano del aceite esencial de la Hoja de *Laurus nobilis* “laurel” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino 30 µg en un estudio in vitro.

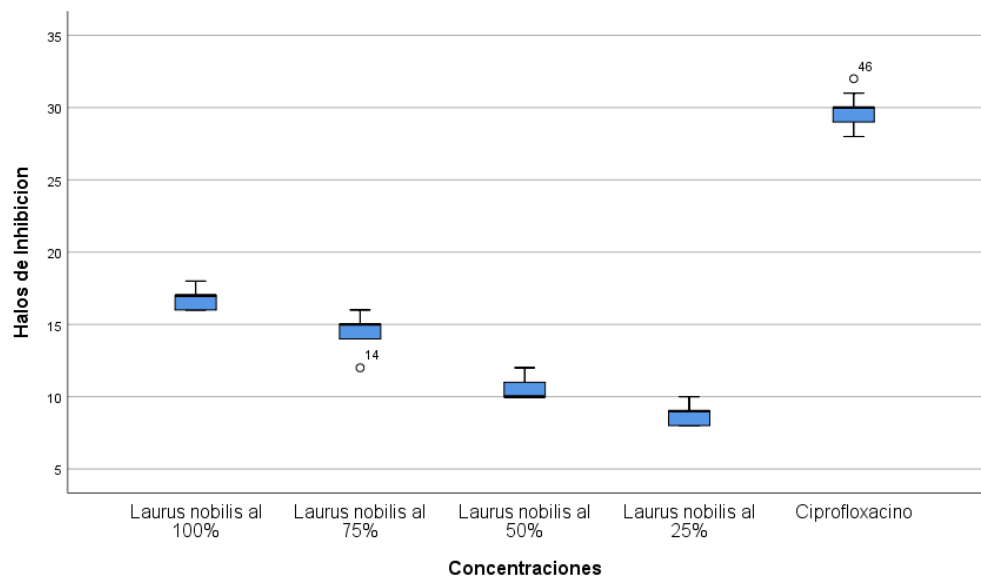
ANALISIS DE HOMOGENEIDAD DE LOS DATOS: TUKEY

HSD Tukey^a

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
<i>Laurus nobilis</i> al 25%	10	8,80				
<i>Laurus nobilis</i> al 50%	10		10,50			
<i>Laurus nobilis</i> al 75%	10			14,60		
<i>Laurus nobilis</i> al 100%	10				16,80	
Ciprofloxacino	10					29,90
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10.000.

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25



Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

GRAFICO 01. Efecto antibacteriano del aceite esencial de la Hoja de *Laurus nobilis* “laurel” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino 30 µg en un estudio in vitro.

IV. DISCUSIÓN

Con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino 5 µg se desarrolló un estudio in vitro donde se observó 10 placas con un total de 50 cultivos. En cada placa Petri se colocaron un total de 5 discos de los cuales 4 de ellos representaban el aceite esencial de *Laurus nobilis* “laurel” a distintas concentraciones (100%, 75%, 50%, 25%) se comparó con el patrón de ciprofloxacino 5 µg.

En la Tabla 01, se observa que inicia a tener efecto inhibitorio a partir de la dilución de 25% con un halo de inhibición de 8.80 mm (DS 0.789 ± 0.249 IC95%: de 8.24 a 9.36) entre los intervalos de 8 a 10 mm, a la dilución de 50% con halo de inhibición de 10.50 mm (DS 0.707 ± 0.224 IC95%: 9.99 a 11.01) entre los intervalos de 10 a 12 mm, a la dilución del 75% con halo de inhibición de 14.60 mm (DS 1.075 ± 0.340 IC 95%: de 13.83 a 15.37) entre los intervalos de 12 a 16 mm y a la dilución de 100% con un halo de inhibición de 16.80 mm (DS 0.789 ± 0.249 IC95%: 16.24 a 17.36) entre los intervalos de 16 A 18 mm, pero a estas diluciones no alcanza los niveles óptimos para considerarlo eficaz, ya que estos valores no están dentro de lo considerado por el CLSI como susceptible (≥ 21 mm) estadísticamente los datos se corroboran con el análisis ANOVA Tabla 02 cuyos resultados del experimento indican que son altamente significativos (0.000) asimismo en el análisis de homogeneidad de Tukey Tabla 03 se observa las medias de los halos de inhibición a diferentes diluciones del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” comparado con el ciprofloxacino se observa que se evidencia efecto inhibitorio desde la concentración de 25% sin embargo no supera el efecto antibacteriano del ciprofloxacino 29.90 mm.

Asimismo en el Gráfico 01 se puede visualizar las medias de los halos de inhibición a diferentes diluciones de la planta comparada con la ciprofloxacino, en todas las concentraciones de aceite esencial se evidencia algún grado de

inhibición siendo mayor cuando se aumenta la concentración, sin embargo no superan el efecto inhibitorio del ciprofloxacino 29.90 mm.

Los resultados encontrados son similares a los de Caputo L. et al⁵ reportó un halo de inhibición de 16 mm \pm 2 para *E. coli*, al igual que Goudjil M. et al⁷ encontró un halo de inhibición de 13.73 mm para *E. coli*, Nehir S. et al⁸ describe un halo de inhibición de 8.5 mm, Ouibrahim A. et al⁹ con un halo de inhibición de 11.5 mm, Bennadja S. et al¹⁰ quien encontró un halo de inhibición de 11.5 mm y Abu-Zaid A. et al¹² determina un halo de inhibición de 8 mm.

Sin embargo los resultados fueron menores a los estudios de Yerou O. et al⁶ quien encontró un halo de inhibición de 23 mm, Moghtader M. et al¹¹ con un halo de inhibición de 28 mm y Ekren S. et al¹³ reportó 19 mm de halo de inhibición para *Escherichia coli*.

Las diferencia con los otros estudios pueden deberse a la influencia que tiene el medio ambiente (temperatura, terreno, humedad, minerales en las tierras de cultivo) sobre el desarrollo de las plantas, ya que todos estos factores determinan la composición y a concentración de los componentes químicos de las plantas y la volatilidad de los mismos al ser procesados para uso industrial en nuestro caso para uso medicinal.

V. CONCLUSIÓN

- El aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” demostró tener efecto antibacteriano a medida que aumentaba la concentración pero fue menor que del ciprofloxacino.
- El aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” en las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100% presentó halo de inhibición, sin embargo a estas diluciones no alcanza los niveles óptimos para considerarlo eficaz, ya que estos valores no están dentro de lo considerado por el CLSI como susceptible (≥ 21 mm).
- El ciprofloxacino presentó mayor halo de inhibición de 29.9 mm, comparado con las diferentes concentraciones del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel”.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda ampliar el estudio del efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” en cepas de otras bacterias (Gram positivas o negativas), hongos y parásitos.
- Realizar estudios usando el aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* “laurel” unido a la ciprofloxacino para evaluar si existe sinergia antibacteriana.
- Aplicar el aceite esencial de la hoja de *Laurus nobilis* en especímenes de animales de experimentación para confirmar la respuesta de su efectividad a las concentraciones encontradas.
- Realizar estudios comparativos sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial de las diferentes especies de *Laurus nobilis* que existen en diferentes lugares de cultivo.

VII. REFERENCIAS

1. Organización mundial de la salud (OMS). Enfermedades infecciosas producidas por *Escherichia coli*. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2016. (Citado: 20/08/2017). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
2. Organización mundial de la salud (OMS). Enfermedades diarreicas agudas en la población pediátrica. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2017. (Citado: 20/08/2017). Disponible en: <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs330/es/>
3. Organización panamericana de la salud (OPS). Enfermedades transmitidas por alimentos contaminados. Washington, USA: Organización panamericana de la salud / Organización mundial de la salud; 2014. (Citado: 20/08/2017). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>
4. Bouzouita N, Nafti A, Chaabouni M, Lognay G, Marlier M, Zghoulli S, Thonart Ph. Chemical Composition of *Laurus nobilis* Oil from Tunisia. *J Essential Oil Res* 2001; 13: 116-117. (Citado: 21/08/2017). Disponible en: <http://www.tandfonline.com/sci-hub.io/doi/abs/10.1080/10412905.2001.9699631>
5. Caputo L, Nazzaro F, Souza L, Aliberti L, De Martino L, Fratianni F et al. *Laurus nobilis*: Composition of Essential Oil and Its Biological Activities. *Molecules*. 2017; 22: 930. (Citado: 20/08/2017). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/317339590_Laurus_nobilis_Composition_of_Essential_Oil_and_Its_Biological_Activities
6. Yerou O, Meddah B, Tir A. Physicochemical study and antibacterial activity of *Laurus nobilis* from Mascara (Algeria). *J Chem Pharm Res* 2015; 7: 1102-1106. (Citado: 20/08/2017). Disponible en: <http://www.jocpr.com/articles/physicochemical-study-and-antibacterial-activity-of-laurus-nobilis-from-mascara-algeria.pdf>
7. Goudjil M, Ladjel S, Bencheikh S, Zighmi S, Hamada D. Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian *Laurus nobilis* *Lauraceae*. *J Chem Pharm Res* 2015; 7(1): 379-385. (Citado: 17/04/2018). Disponible en: <http://www.jocpr.com/articles/study-of-the-chemical-composition->

[antibacterial-and-antioxidant-activities-of-the-essential-oil-extracted-from-the-leave.pdf](#)

8. Nehir S, Karagozlu N, Karakaya S, Sahin S. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Extracted from *Laurus nobilis* L. Leaves by Using Solvent-Free Microwave and Hydrodistillation. *Food Nutr Sci* 2014; 5: 97-106. (Citado: 20/08/2017). Disponible en: https://file.scirp.org/pdf/FNS_2014011415591869.pdf
9. Ouibrahim A, Tlili-Ait-kaki Y, Bennadja S, Amrouni S, Djahoudi A, Djebar M. Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *Afr J Microbiol Res* 2013; 7: 4968-4973. (Citado: 20/08/2017). Disponible en: <http://www.academicjournals.org/journal/AJMR/article-full-text-pdf/C36B18740464>
10. Bennadja S, Ait Y, Djahoudi A, Hadeef Y, Chefrou A. Antibiotic Activity of the Essential Oil of Laurel (*Laurus nobilis* L.) on Eight Bacterial Strains. *Journal of Life Sciences* 2013; 7: 814-819. (Citado: 20/08/2017). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/261759960_Antibiotic_activity_of_essential_oil_of_Laurel_Laurus_nobilis_on_eight_bacterial_strains
11. Moghtader M, Farahmand A. Evaluation of the antibacterial effects of essential oil from the leaves of *Laurus nobilis* L. in Kerman Province. *J Microbiol Antimicrob* 2013; 5: 13-17. (Citado: 20/08/2017). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/311745955_Evaluation_of_the_antibacterial_effects_of_essential_oil_from_the_leaves_of_Laurus_nobilis_L_in_Kerman_Province
12. Abu-Zaid A, Alopidi A, EL-Sehrawy M. In vitro antibacterial, anticancer and antioxidant properties of some oil plant extract. *J Am Sci* 2013; 9: 83-94. (Citado: 20/08/2017). Disponible en: http://www.jofamericanscience.org/journals/am-sci/am0911s/014_22191am0911s_83_94.pdf
13. Ekren S, Yerlikaya O, Tokul H, Akpinar A, Açu M. Chemical composition, antimicrobial activity and antioxidant capacity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Afr J Microbiol Res* 2013; 7(5): 383-388. (Citado: 17/04/2018).

Disponible en: <http://www.academicjournals.org/journal/AJMR/article-full-text-pdf/4C73D7D18162>

14. Yilmaz E, Timur M, Aslim B. Antimicrobial, Antioxidant Activity of the Essential Oil of Bay Laurel from Hatay, Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 2013; 16(1): 108-116. (Citado: 17/04/2018). Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/0972060X.2013.764158>
15. Danièle R. Aromaterapia: enciclopedia de las plantas aromáticas y de sus aceites esenciales. 1º ed. Barcelona: Editorial Kairós; 1995. (Citado: 30/08/2017)
16. Olaya J, Mendez J. Guía de plantas y productos medicinales. 1º reimpresión. Bogotá: Convenio Andrés Bello; 2003. (Citado: 30/08/2017).
17. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. Plantas medicinales de uso en Chile: Química y Farmacología. 1º ed. Chile: Editorial Universitaria; 2001. (Citado: 30/08/2017)
18. Small E. Top 100 Exotic Food Plants. 1st ed. Canadá: CRC Press; 2011. (Citado: 04/09/2017)
19. Garcia F, Mostacero J. Flora etnomedicinal de la región amazónica del Perú. 1º ed. Trujillo, Perú: Herbario Etnobotánico Amazónico; 2009. (Citado: 04/09/2017)
20. Robbers J, Tyler V. Las hierbas medicinales de Tyler: uso terapéutico de las fitomedicinas. 1º ed. Barcelona: Acribia S.A; 2003. (Citado: 04/09/2017)
21. DeBaggio T, Tucker A. The Encyclopedia of Herbs: A Comprehensive Reference to Herbs of Flavor and Fragrance. 1st ed. London: Timber Press; 2009. (Citado: 04/09/2017)
22. Parthasarathy V, Chempakam B, Zachariah T. Chemistry of Spices. 1st ed. London: CABI; 2008. (Citado: 04/09/2017)
23. Donarus A, Farreras P, Rozman C, Cardelach F. Medicina interna. 17º ed. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2012. (Citado: 08/09/2017)
24. Longo D, Kasper D, Jomson J, Fousi A, Houser S, Loscalzo J. Harrison Principios de medicina interna. 18º ed. Vol. 3. México D.F: Mc Graw Hill; 2008. (Citado: 08/09/2017)
25. Brooks G, Carrol K, Buyel J, Morse S, Migtzner T. Microbiología médica. 25º ed. Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2010. (Citado: 08/09/2017)

26. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica. 6º ed. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2009. (Citado: 08/09/2017)
27. Katzung B, Masters S, Trevor A. Farmacología básica y clínica. 11º ed. Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2007. (Citado: 08/09/2017)
28. Lorenzo P, Moeno A, Leza J, Lizasoain I. Velásquez farmacología básica y clínica. 17º ed. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana; 2005. (Citado: 08/09/2017)
29. Hardman J, Linbird L, Molinoff P, Ruddon R, Gilman A. Las Bases farmacológicas de la terapéutica. 9º ed. México D.F: Mc Graw Hill; 2005. (Citado: 08/09/2017)
30. Paul G, Janet L, Gwendolyn R. Burton's Microbiology for the Health Sciences. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. (Citado: 08/09/2017)
31. Paul G, Janet L. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic Microbiology. 1st ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. (Citado: 20/01/2018)
32. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI Supplement M100S. 19087 USA, 2016. (Citado: 25/05/2017). Disponible en: <http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2015-M100-S25-original.pdf>
33. Dawson B. Trapp R. Bioestadística Médica, 3ra. ed. México: Manual Moderno; 1999. (Citado: 08/09/2017)
34. Sharapin, Nikolai. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Colombia: Editorial CYTED, Ciencia y Tecnología para el Desarrollo; 2000. (Citado: 20/01/2018)
35. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002. (Citado: 19/10/2017). Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
36. Sistema de Gestión de la Calidad del Pronahebas, Ministerio de Salud (MINSA). Manual de Bioseguridad: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre, 2004. Norma técnica N° 015 - MINSA / DGSP - V.01. 2004.

Perú. (Citado: 02/06/2017). Disponible en:
<http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/manual%20de%20bioseguridad.pdf>

37. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima, Perú: Colegio Médico del Perú; 2007. (Citado: 02/06/2017). Disponible en:
http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf

VIII. ANEXOS

ANEXO 01

TAMAÑO DE MUESTRA

$$n = \frac{(z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Donde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$ Para un nivel de confianza al 95%

$Z_{\beta} = 0.84$ Para una potencia de prueba al 80%

$X_1 = 21 \text{ mm}^{32}$

$X_2 = 16 \text{ mm}^5$


$\sigma: 2^5$

$n = 3$ número mínimo de repeticiones por cada concentración

Se utilizaron 10 repeticiones por cada concentración.

ANEXO 02

IDENTIFICACIÓN TAXONOMICA DE LA PLANTA

	FRUTOS Y ESPECIAS S.A.C.
	IMPORTACIÓN DISTRIBUCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE
	FRUTAS SECAS, ESPECIAS, MENESTRAS Y OTROS.

ÁREA DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

CÓDIGO FTPT-B-0026

Versión: oct-16

FICHA TÉCNICA	
Comercializado por:	FRUTOS Y ESPECIAS S.A.C.
Dirección de la Planta:	AV. MÉXICO 1937 LA VICTORIA
Nombre del producto:	HOJA DE LAUREL
Marca:	SANTIS
1. Descripción del producto	
Hojas desecadas y limpias del árbol <i>Laurus nobilis</i> .	
2. Composición (ingredientes)	
Hojas de laurel.	
3. Especificaciones Técnicas	
3.1 Características Sensoriales	
ASPECTO:	Hojas de forma elíptica, con algunas piezas fragmentadas.
COLOR:	De verde oliva a verde amarillento, con manchas propias de la hoja
SABOR / OLOR	Característico, picante y amargo
TEXTURA:	Lisa y aspera.
TAMAÑO:	Chica, medianas y grandes.
3.2 Características Físico- Químicas	
HUMEDAD	Máx. 9.0%
CENIZAS	Máx. 4.0%
IMPUREZAS ORGÁNICAS	Máx. 5.0%
IMPUREZAS INORGÁNICAS	Ausencia
3.3 Características Microbiológicas	
AEROBICOS MESÓFILOS	Máx. 10 ⁵ ufc/g
MOHOS	Máx. 10 ³ ufc/g
COLIFORMES	Máx. 10 ² ufc/g
E. COLI	Máx. 10 ufc/g
SALMONELLA SP.	Ausencia/25g
4. Empaque y presentación	
4.1 Envase primario	Bolsa de 250g
4.2 Envase secundario	Cajas de cartón corrugado.
5. Tiempo de vida útil del producto	
06 meses	
6. Sistema de identificación de lote	
* Lote: DD/AAAA 292-18 : 10/2018	
DD: Día en el calendario juliano - AAA: Año	
7. Rótulo de la etiqueta	
Nombre del Producto y Marca	
Ingredientes	
Contenido Neto	
Nombre y dirección del Productor	
Registro sanitario	
Condiciones de conservación	
Número de lote y Fecha de vencimiento	
Declaración de alérgenos	
8. Condiciones de almacenamiento	
Mantener en lugar fresco y seco.	
9. Condiciones de distribución	
Producto frágil	

AV. MÉXICO 1937 LA VICTORIA LIMA - PERÚ

e-mail: ventas@frutosyespecias.com.pe

473-7552/4737250 / 3232687 fax 4730276

Página Web: www.frutosyespecias.com.pe

ANEXO 03

PROCESO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE LA HOJA DE *Laurus nobilis*.

FUNDAMENTO:

La producción y consumo mundial de aceites esenciales y perfumes están aumentando muy rápidamente. La tecnología de producción es un elemento esencial para mejorar el rendimiento y la calidad global del aceite esencial. La destilación de agua es el método más favorecido de producción de aceites vegetales.

La destilación por arrastre con vapor es un método usado para aislar componentes orgánicas en agua y volátiles, de otras no volátiles que están en una mezcla. La ley de Dalton nos indica que cuando dos o más vapores, que no reaccionan entre sí, se mezclan a temperatura constante cuando sus presiones son las misma generando un sistema de presión total.

PROCEDIMIENTO

1. Tratamiento de la muestra

Las hojas secas de *Laurus nobilis* “laurel” empaquetadas de la marca *Santis*, importadas por la Empresa Empresa FRUTOS Y ESPECIAS S.A.C., se obtuvieron en el MAKRO SUPERMAYORISTA S.A de Trujillo, en una cantidad de 1 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujó manualmente el vegetal seco hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).

2. Obtención del Aceite Esencial

El aceite esencial de *Laurus nobilis* “laurel” se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llenó las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparon herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la MS estuvo conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el Balón con agua se calentó con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasó a través del ducto hacia el Balón con la MS y arrastró los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización.



Foto 01: Destilación por arrastre con vapor

Los aceites esenciales son generalmente insolubles en agua y menos densos que ésta, lo que facilita la separación de la fase orgánica, que se obtienen en un embudo de decantación. Esta técnica es muy empleada y reconocida, se usa generalmente para extraer esencias fluidas, utilizadas para perfumería y cosmética. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada.



Foto 02: Proceso de separación del aceite esencial



Foto 03: Obtención del aceite esencial

ANEXO 04

DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA POR EL METODO DE DISCO DIFUSIÓN

FUNDAMENTO

El método de antibiograma desarrollado en discos de difusión basado en los trabajos de Kirby y Bauer es una de los métodos que la National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para el estudio de sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. Este método consiste en preparar los medios de agar en placas de 100 a 150 mm de diámetro, para luego ser inoculados de forma simétrica y en un solo sentido y dejar el inóculo un aproximado de 24 a 48 horas para medir los halos de inhibición en cada placa. Este método también está aprobado por la NCCLS para la investigación de nuevos antimicrobianos.

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL ANTIBIOGRAMA PREPARACION DEL AGAR MUELLER HINTON:

1. Preparación del medio de cultivo

Se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.

2. Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100.

a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Escherichia coli*, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aprox.)



Foto 04: Preparación del inóculo

b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Escherichia coli*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.



Foto 05: Siembra del microorganismo *Escherichia coli*

c) Preparación de las concentraciones del AE

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfoxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 μ L de AE y 250 μ L de DMSO al tubo de 75%, 500 μ L de AE y 500 μ L de DMSO al tubo de 50%, y 250 μ L de AE y 750 μ L de DMSO al tubo de 25%.



Foto 06: Preparación de las concentraciones del aceite esencial de *Laurus nobilis*



Foto 07: Preparación de las concentraciones del aceite esencial de *Laurus nobilis* en los tubos de ensayo con DMSO

Foto 08: Preparación de las diluciones del aceite esencial de *Laurus nobilis*



d) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 μ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 μ L de AE al 25% y se colocó en un disco, 10 μ L de AE al 50% en otro disco, 10 μ L de AE al 75% en otro disco y 10 μ L de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.



Foto 09: Preparación de los discos con diferentes concentraciones del aceite esencial de *Laurus nobilis*

e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Laurus nobilis* “laurel”, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco ciprofloxacino (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.



Foto 10: Colocación de los discos con las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Laurus nobilis*

f) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de *Laurus nobilis* “laurel” y para el ciprofloxacino. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.

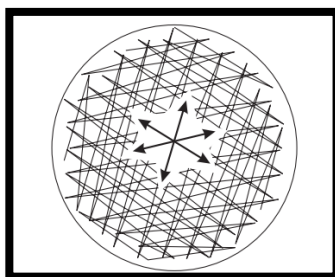


Figura 01: Direcciones en el sembrado del inóculo sobre la superficie del agar Mueller Hinton

ANEXO 05

INSTRUMENTO

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA MEDIR EL TAMAÑO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN SOBRE CEPAS DE *Escherichia coli* ATCC 25922

PATÓGENO <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Laurus nobilis</i> "laurel"				CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	100%	75%	50%	25%	Ciprofloxacino (5µg)	DMSO
Repetición 1	17	15	10	9	30	0
Repetición 2	16	15	11	8	30	0
Repetición 3	17	14	10	9	30	0
Repetición 4	18	12	10	8	28	0
Repetición 5	16	15	10	8	29	0
Repetición 6	17	16	10	9	32	0
Repetición 7	18	15	11	8	31	0
Repetición 8	16	15	10	9	30	0
Repetición 9	17	15	12	10	30	0
Repetición 10	16	14	11	10	29	0

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO POR CADA EXPERTO

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES		SI	NO	OBSERVACIÓN
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos		X		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación		X		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial		X		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir		X		
VALIDEZ				
APLICABLE	X	NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN

Firma y sello
Jatme Polo Gamboa
COP 6951

Firma y sello
MSc. DAVID García Cedín
(CP: 5827)

[Signature]
Dr. Steve T. Hurtado Escamilla
MICROBIOLOGO CLINICO
Especialista en Análisis Clínico y Diagnóstico
C.R.F. 2285 RNEC 1112
RED AGENCIATURAL LA LIBERTAD
Firma y sello azul

ANEXO 07

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD PARA EL ESTUDIO EXPERIMENTAL

A. Ambiente Seguro

Limpieza: Es el proceso mediante el cual se eliminan materias orgánicas y otros elementos extraños de los objetos en uso, mediante el lavado con agua, con o sin detergente, utilizando una acción mecánica o de arrastre.

La limpieza debe preceder a todos los procedimientos de desinfección y esterilización de todas las áreas.

La limpieza debe ser realizada con paños húmedos y el barrido con escoba húmeda a fin de evitar la resuspensión de los gérmenes que se encuentran en el suelo.

La limpieza deberá iniciarse por las partes más altas, siguiendo la línea horizontal, descendiendo por planos.

Desinfección: Se realizará utilizando principalmente agentes químicos en estado líquido, como el alcohol a 70%, la pasteurización a 75°C y la irradiación ultravioleta.

Descontaminación: Se realizará un tratamiento químico aplicado a objetos que tuvieron contacto con sangre o fluido corporales, con el fin de inactivar microorganismos en piel u otros tejidos corporales.

Esterilización: Esterilización por vapor, esterilización por calor seco, esterilización por inmersión en productos químicos.

B. Protección Corporal

La utilización de mandiles o batas es una exigencia multifactorial en la atención a pacientes por parte de los integrantes del equipo de salud.

Recomendaciones:

- Usar bata, chaqueta o uniforme dentro del laboratorio.
- Esta ropa protectora deberá ser quitada inmediatamente antes de abandonar el área de trabajo
- Deberá ser transportada de manera segura al lugar adecuado para su descontaminación y lavado.

C. Protección Ocular y Tapaboca

La protección ocular y el uso de tapabocas tienen como objetivo proteger membranas mucosas de ojos, nariz y boca durante procedimientos y cuidados de pacientes con actividades que puedan generar aerosoles, y salpicaduras de sangre.

Anteojos o lentes de Seguridad:

- Deben permitir una correcta visión
- Deben tener protección lateral y frontal, ventilación indirecta, visor de policarbonato, sistema antirrayaduras y antiempañantes
- Deben permitir el uso simultáneo de anteojos correctores
- Deben ser de uso personal.
- Serán utilizados todo el tiempo que dure el procesamiento de las muestras y el fraccionamiento de las unidades de sangre. Cualquier excepción a esta regla, debe estar incluida en el programa de bioseguridad del servicio.

Tapaboca:

- Debe ser de material impermeable frente a aerosoles o salpicaduras
- Debe ser amplio cubriendo nariz y toda la mucosa bucal.
- Puede ser utilizado por el trabajador durante el tiempo en que se mantenga limpio y no deformado.
- Esto dependerá del tiempo de uso y cuidados que reciba.

D. Protección de los pies

- Esta protección está diseñada para prevenir heridas producidas por sustancias corrosivas, objetos pesados, descargas eléctricas, así como para evitar deslizamientos en suelos mojados. Si cayera al suelo una sustancia corrosiva o un objeto pesado, la parte más vulnerable del cuerpo serían los pies.

No se debe llevar ninguno de los siguientes tipos de zapatos en el laboratorio:

- ✓ Sandalias

- ✓ Zuecos
- ✓ Tacones altos
- ✓ Zapatos que dejen el pie al descubierto

Se debe elegir un zapato de piel resistente que cubra todo el pie. Este tipo de calzado proporcionará la mejor protección.

E. Protección de las manos

Se utilizarán para evitar o disminuir tanto el riesgo de contaminación con los microorganismos de la piel del operador, como de la transmisión de gérmenes manipulados por el operador. Las manos deben ser lavadas según técnica clínica y secadas antes de su colocación. De acuerdo al uso los guantes pueden ser estériles o no, y se deberá seleccionar uno u otro según necesidad.

ANEXO 08

En el presente trabajo se respetó el principio de ética adoptado en el capítulo 6 del código de ética del Colegio Médico del Perú, Art 48.³⁷

Art. 48: “El médico debe presentar la información proveniente de una investigación médica, para su publicación, independientemente de los resultados, sin incurrir en falsificación ni plagio y declarando si tiene o no conflicto de interés”.

ANEXO 09

Tabla 04: Efecto antibacteriano del aceite esencial de la Hoja de *Laurus Nobilis* “Laurel” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino 30 µg en un estudio in vitro.

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente:						
HSD Tukey						
		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
(I) Concentraciones					Límite inferior	Límite superior
100%	75%	2,200*	0,370	0,000	1,11	3,29
	50%	6,300*	0,370	0,000	5,21	7,39
	25%	8,000*	0,370	0,000	6,91	9,09
	Ciprofloxacino	-13,100*	0,370	0,000	-14,19	-12,01
75%	SSF	16,800*	0,370	0,000	15,71	17,89
	100%	-2,200*	0,370	0,000	-3,29	-1,11
	50%	4,100*	0,370	0,000	3,01	5,19
	25%	5,800*	0,370	0,000	4,71	6,89
50%	Ciprofloxacino	-15,300*	0,370	0,000	-16,39	-14,21
	SSF	14,600*	0,370	0,000	13,51	15,69
	100%	-6,300*	0,370	0,000	-7,39	-5,21
	75%	-4,100*	0,370	0,000	-5,19	-3,01
25%	25%	1,700*	0,370	0,000	0,61	2,79
	Ciprofloxacino	-19,400*	0,370	0,000	-20,49	-18,31
	SSF	10,500*	0,370	0,000	9,41	11,59
	100%	-8,000*	0,370	0,000	-9,09	-6,91
Ciprofloxacino	75%	-5,800*	0,370	0,000	-6,89	-4,71
	50%	-1,700*	0,370	0,000	-2,79	-0,61
	Ciprofloxacino	-21,100*	0,370	0,000	-22,19	-20,01
	SSF	8,800*	0,370	0,000	7,71	9,89
SSF	100%	13,100*	0,370	0,000	12,01	14,19
	75%	15,300*	0,370	0,000	14,21	16,39
	50%	19,400*	0,370	0,000	18,31	20,49
	25%	21,100*	0,370	0,000	20,01	22,19
Ciprofloxacino	SSF	29,900*	0,370	0,000	28,81	30,99
	100%	-16,800*	0,370	0,000	-17,89	-15,71
	75%	-14,600*	0,370	0,000	-15,69	-13,51
	50%	-10,500*	0,370	0,000	-11,59	-9,41
SSF	25%	-8,800*	0,370	0,000	-9,89	-7,71
	Ciprofloxacino	-29,900*	0,370	0,000	-30,99	-28,81

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

